

PERSPECTIVAS PARA EL CULTIVO DE OSTRAS EN EL GOLFO DE NICOYA

Sidey Arias V., Gerardo Zúñiga C., Eduardo Zamora M. y Wouter Zurburg
Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional
Heredia 86-3000, Costa Rica.

RESUMEN

Con el fin de desarrollar el cultivo de ostras (*Crassostrea rhizophorae* y *C. gigas*) como una posible alternativa para los pescadores artesanales del Golfo de Nicoya en Costa Rica, se realizaron en el Laboratorio de Cultivos Marinos de la Universidad Nacional estudios sobre reproducción, producción de "semilla libre", evaluación de microalgas, evaluación de sistemas de cultivo y engorde de ostras.

La mezcla de microalgas *Isochrysis galbana* : *Chaetoceros gracilis* (de cinco analizadas) fue la que dió mejores resultados, con un 36 % de fijación, a partir del total de larvas pediveliger.

Para la obtención de "semilla libre" se evaluaron dos técnicas: la primera, utilizando neurotransmisores (Gaba, L-Dopa, norepinefrina y epinefrina) no dió resultados favorables, la segunda, usando concha molida con tamaños de 250-350 μm y 350-425 μm rindió 26 % y 14 % de fijación, respectivamente, a partir del total de larvas pediveliger. En la etapa de engorde, los mejores resultados de crecimiento se obtuvieron con *C. gigas* en los canales de abastecimiento de la finca camaronera Langostinos del Pacífico, Quepos, con 78 mm en 7,3 meses y una sobrevivencia promedio de 55 % durante 1991. Con el ostión de mangle *C. rhizophorae* los mejores resultados se obtuvieron en los estanques de cultivo de la finca camaronera ChomesMar S.A. en el Golfo de Nicoya con 53

mm en 8,5 meses y una sobrevivencia de 6 % durante 1995.

En todas las zonas de cultivo ubicadas en el Golfo de Nicoya, la mortalidad excedió el 94 %, debido principalmente al ataque del poliqueto *Polydora*.

La tecnología adquirida se transfirió a grupos organizados de las comunidades de Paquera, Jicaral e Isla Venado, todas ellas ubicadas en el Golfo de Nicoya.

ABSTRACT

Studies by the Laboratory of Marine Cultures of the National University on diets, cultchless seed production and evaluation of methods for outdoor growing of oysters (*Crassostrea rhizophorae* and *C. gigas*) have been directed toward the development of the oyster culture as an alternative for the fishermen of the Nicoya Gulf, Puntarenas, Costa Rica.

Of five diets tested, the mixture of *Isochrysis galbana*: *Chaetoceros gracilis* gave the best result with 36 % of setting. For the production of cultchless seed two techniques were tested, one preventing setting through induction of metamorphosis with Gaba, L-Dopa, norepinephrine and epinephrine, and the second allowing the setting process using grounded oyster shell (250-350 μm and 350-

425 μm) as substratum. The first method did not give positive results, while the second was relatively successful with 26 % and 14 % settlement of the larvae for each particulate size.

The best results concerning outdoor growing were obtained with *C. gigas* in 1991 at the inlet of a shrimp farm situated at the Central Pacific Coast, with 78 mm in 7.3 months and 55 % survival. The best results with *Crassostrea rhizophorae* were achieved in shrimp ponds of a farm in the Nicoya Gulf, with a growth of 53 mm in 8 months and a survival rate of 6 % (in 1995). Due to severe infestation by *Polydora spp.*, the mortality in the Nicoya Gulf always exceeded 94 %.

The knowledge so far acquired is being transferred to the fishermen communities of Paquera, Jicaral and the Isle of Venado, all of them in the Nicoya Gulf.

INTRODUCCION

El consumo de moluscos en Costa Rica está restringido a unas cuantas especies, las cuales ya no cubren la demanda del mercado local. Sobreexplotación, impacto ecológico ocasionados por la contaminación y la inestabilidad social en las zonas costeras son los factores principales que han repercutido negativamente en los bancos naturales. Tal es el caso de *Anadara similis*, *A. tuberculosa* (pian-gua), *Pinctada mazatlánica* (ostra perlera), *Crassostrea rhizophorae* (ostión de mangle), *Strombus spp.* (cambute), calamares, pulpos etc. Nos obliga al igual que otros países en desarrollo, a buscar alternativas de corto y mediano plazo con bajo costo de inversión cuya finalidad sea la de darle un uso más racional a nuestros ecosistemas, al mismo tiempo que se mitigan los efectos negativos en los sectores más vulnerables que dependen de la actividad pesquera.

Dentro de las especies de moluscos bivalvos, las ostras han logrado despertar interés para su cultivo, por su rápido crecimiento, adaptabilidad y abundancia en los desoves. La poca inversión y su fácil manejo en la etapa de engorde han hecho que muchos países en vías de desarrollo hayan implementado su cultivo como una alternativa de desarrollo con excelentes resultados, tales son los casos de

Cuba; Chile, Sierra León en Africa Occidental; Malasia, Pakistán etc.

Los bancos naturales de *Crassostrea rhizophorae* (GUILDING 1828) son muy reducidos en Costa Rica, solamente se cuenta con tres poblaciones ubicadas en la Costa Caribe de la provincia de Limón (Estero Viscaya, Estero Negro y Gandoca Manzanillo). Características climáticas, mareales y topográficas de nuestra Costa Caribe no favorecen la existencia de ambientes de baja energía, necesarios para el asentamiento de árboles de mangle, obligando a las pequeñas poblaciones a establecerse en los pilotes que sustentan los puentes en ambos esteros. En Gandoca el parche de mangle es sumamente escaso, siendo esta la población más pequeña de las tres (ALARCÓN Y ZAMORA 1993).

El laboratorio de Cultivos Marinos de la Universidad Nacional, ubicado en la ciudad de Heredia ha trabajado con dos especies de ostras del género *Crassostrea* (*C. rhizophorae* endémica de la región y *C. gigas* especie introducida), en la evaluación de bancos naturales y dietas para larvas, obtención de "semilla libre", desarrollo de sistemas de cultivo en el campo y transferencia de tecnología, entre otras actividades. El presente trabajo recopila las investigaciones realizadas entre 1993 - 1998 con los objetivos siguientes:

- ** Optimizar la producción de semilla de ostra en laboratorio.
- ** Desarrollar sistemas de cultivo en el campo.
- ** Propiciar la transferencia de tecnología en el campo.

MATERIALES Y METODOS

Producción de semilla en laboratorio

Mensualmente se colectaron de 30 a 36 organismos adultos de *Crassostrea rhizophorae* con una altura promedio entre 50-60 mm del banco natural, Estero Viscaya (ubicado en la provincia de Limón), así como 30 individuos entre los 50 -70 mm de altura de las zonas de cultivos experimentales en la finca camaronera Chomesmar S.A. (Chomes), Isla Venado, Isla Cedros y Punta Cuchillo (todos ubicados en el Golfo de Nicoya, Puntarenas) y de la

finca camaronera Langostinos del Pacífico S.A., ubicada en la zona de Damas, Quepos (figura 1). Además se importaron anualmente de Chile cerca de 30 - 40 adultos *Crassostrea gigas* (Thunberg)

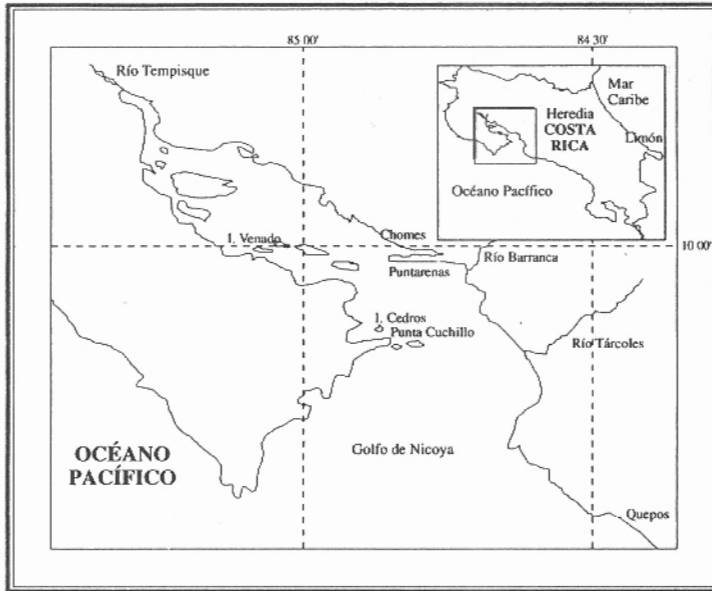


Figura 1. Ubicación de los sitios de trabajo en el Golfo de Nicoya

con una altura promedio de 100-120 mm (Universidad Católica de Chile). Los organismos se mantuvieron durante un período de acondicionamiento de 18 a 22 días en sistemas recirculados (biofiltros de concha quebrada o núcleos de plástico) con capacidad de 500L, con una salinidad de 30 ‰ y una temperatura de $25 \pm 1^\circ \text{C}$. La alimentación se realizó con una mezcla de microalgas de *Isochrysis galbana* - *Chaetoceros gracilis* y microencapsulado (Frippak 2,5-20 μm), en una relación de 30:60:10 % respectivamente. En ocasiones se alimentó también con una mezcla 1:1 de *I. galbana* y *C. gracilis*, suministradas en dos raciones diarias para un total de $2,5 \times 10^6$ cel/mL diarios.

Antes del desove los organismos se limpiaron de incrustantes y se expusieron al aire a una temperatura de 18°C durante 10 -12 horas. La inducción al desove se realizó colocándolos en 100 L de agua a 30 ‰ de salinidad y 15°C por un período de aclimatación de 30 min, aumentando luego la temperatura a un ritmo de $1^\circ \text{C}/30$ minutos hasta alcanzar los 24°C en que se suministró una solución

fresca de gametos, prosiguiendo luego hasta un máximo de 28°C . Después del desove se colectaron los gametos por aparte en 20 L de agua previamente tratada, filtrando espermios y óvulos con tamices de 30 μm y de 45 μm , respectivamente.

El conteo de los gametos se realizó con un hematocítmetro Neubauer en el caso de los espermios y una caja de petri cuadrada para los óvulos.

Para la fertilización *in vitro* se mantuvo una la relación espermios-óvulos (E:O) de 100:1 para *C. gigas* y 500:1 para *C. rhizophorae*. En ambas especies la fertilización se realizó 90 minutos después de que el primer macho desovara (método modificado de STEPHANO y GOULD 1988). Los gametos se colocaron en tanques cónicos de 200 L con agua previamente tratada y con aireación moderada, a 24°C de temperatura y 28 ‰ de salinidad y una densidad de 100 óvulos/mL. El primer muestreo se realizó

15 minutos más tarde para confirmar el progreso de la fertilización y veinticuatro horas después se determinaron los porcentajes de fertilización y larvas anormales. Posteriormente se sifoneó y eliminó el agua del fondo y las larvas se colectaron con filtros de 45 μm y se trasladaron a tanques cónicos de 200 L con agua tratada a 25‰, manteniéndolas aquí con recambios del 100 % cada dos días.

Para la obtención de "semilla libre" para la fijación se utilizaron dos métodos. En el primero se indujo a metamorfosis utilizando los neurotransmisores Gaba, L-Dopa, norepinefrina y epinefrina siguiendo los protocolos aplicados por BONAR *et al.* (1990). El segundo método consistió en fijación en concha molida, con tamaños de partículas entre 250-350 μm y 350-425 μm , para un área de aprovechamiento de fijación de 0,2 m^2 , colocada en un sistema recirculado con biofiltros de núcleos de plástico. Estos sistemas de fijación se pusieron a madurar 72 a 96 horas antes de ser trasladadas las larvas en estado pediveliger. Entre

10 a 15 días después se tamizaron y se trasladaron al campo, una vez alcanzados los 3 - 5 mm de altura

Alimentación larval

Se probaron dietas con cuatro especies de algas, *Nanochloropsis oculata*, *Tetraselmis suecica*, *Chaetoceros gracilis*, *Isochrysis galbana* y una mezcla de *I. galbana*: *C. gracilis* a partir del estadio veliger. En el cuadro 1 se indica la concentración de

Las densidades y tratamientos de siembra se indican en el cuadro 2. Mensualmente se realizaron mediciones de parámetros físico-químicos en el campo, se dió mantenimiento a los sistemas y se muestrearon al azar treinta organismos para determinar el crecimiento biométrico y el índice de condición (IC) según la fórmula propuesta por LAWRENCE y SCOTT (1982).

IC = Peso seco de la carne (g) x 1000 / volumen

Cuadro 1.
Densidad de cultivo y ración alimenticia para larvas de ostras utilizando *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros gracilis*

ESTADIO	EDAD	TAMAÑO (μ m)	DENSIDAD (Larvas/mL)	ALIMENTO (Cel/mL)
Huevo y Trocófora	0 -24 Hrs.	55	100	Ninguna
Veliger (D)	1 - 6 días	75 - 120	10	30 000 (una ración) <i>Isochrysis galbana</i> (100%)
Umbonada	7 - 14	130 - 200	5- 10	50 000 (en dos raciones) <i>I. galbana</i> - <i>Chaetoceros gracilis</i> (50:50)
Pediveliger	14 - 21	200 - 300	5	80 000 (en dos raciones) <i>I. galbana</i> - <i>C. gracilis</i> (40:60)
Semilla	21 - 30	>500		100 000-120 000 (en dos raciones) <i>I. galbana</i> - <i>C. gracilis</i> (40:60)

microalgas así como los porcentajes de la mezcla *I. galbana*: *C. gracilis* que dieron los mejores resultados. Las microalgas fueron cultivadas en el medio nutritivo F/2 (GUILLARD 1972) en volúmenes de 10 mL hasta 20 L

Sistemas de cultivo y engorde

En esta etapa se utilizó tanto semilla de *Crassostrea rhizophorae* de 3 a 5 mm de longitud producida en el Laboratorio de Cultivos Marinos, como semilla importada de Chile con tallas entre 7 y 10 mm longitud. Se probaron dos sistemas de cultivo : 1- parques fijos ubicados en los estanques de cultivo de camarón de la finca ChomesMar S.A. y en el canal de abastecimiento de la finca Langostinos del Pacífico S.A.. 2- Sistema de balsas ubicadas en Isla Venado, Isla Cedros y Punta Cuchillo.

intervalvar (VI).

VI = Peso total (g) - Peso de las valvas (g)

RESULTADOS

Inducción a desove

Durante casi todo el período de trabajo, los reproductores procedentes de las zonas de cultivo experimental presentaron de medianas a severas infecciones por *Polydora spp.* La proporción machos: hembras entre los reproductores de todas las zonas de cultivo fue variable, aunque por lo general con predominancia de los machos sobre las hembras (cuadros 3 y 4). No se pudo encontrar ningún tipo de correlación entre esta proporción y la zona de cultivo. De un total de 94 inducciones al desove, se

Cuadro 2.
Densidad de cultivo según talla de las ostras y sistema utilizado

TAMAÑO (mm)	PEARL NET ¹ (0,1 m ²)	LINTERNA ² (0,2 m ² /piso)	CANASTAS METÁLICAS ³ (0,24 m ²)	BOLSAS PLÁSTICAS ⁴ (0,5 m ²)
2-3	3 000		7 200	15 000
4-5	2 000		4 800	10 000
6-9	1 000		2 400	5 000
10-14	500		1 200	2 500
15-19	500		1 200	2 500
20-24	500	1 000	1 200	2 500
25-29	300	600	720	1 500
30		100	120	250
50-70		100	120	250
>70		100	120	250

1.- Abertura de malla de 0,5, 3 y 10 mm. 2.- Abertura de malla de 10 mm. 3.- Para las primeras etapas de crecimiento se utilizan mallas plásticas en el interior de éstas con apertura de 0,5 mm y 3 mm. 4.- Abertura de malla de 10 y 20 mm.

Cuadro 3.
Proporción de hembras:machos desovados de *Crassostrea rhizophorae*

AÑO	MES	VISCAYA	CHOMES	PAQUERA*	QUEPOS
93	Ago	0:1			
	Set	1: 2,7			
	Nov	1: 1 / 1:2,3	3:0		
	Dic	1: 2,7			
94	Ene	0:6 / 1:7 / 1:1,7			
	Feb	1:2 / 1:3 / 1: 2,2			
	Mar	6:0 / 1: 1,5			
	Abr	0: 1: / 0:4			
	May	1: 1,3			
	Jul		3:1		
	Ago		1:4		
	Sep		1,5:1		
95	Jun	1: 2,8	1,6:1		
	Jul	4,3:1			
	Ago	1:1,4	1:1,2		
	Sep	0:3			
96	Feb	2,2: 1			
	Mar	1:1,25			
	Abr	0:4			
	Jul	1:1,6			
	Ago	1:1,3			
	Sep	3:1			
97	Mar			1:0/1: 13	
	Nov				1: 1

* Se refiere a Punta Cuchillo e Isla Cedros

Cuadro 4.
Proporción de hembras:machos desovados de *Crassostrea gigas*
provenientes de diferentes zonas de cultivo

AÑO / MES		CHOMES	PAQUERA*	QUEPOS
93	May	1:1/1:2 / 1:2,5 / 1:5 / 1:2 / 1:4,5		
	Jun	1:3,5 / 1:1		
	Jul	0:3/ 0:1/1:5		
	Ago	0:3		
	Oct	0:11		
95	Feb			1:7
96	Mar		0:10	
	Abr		0:11	
	Nov		1:1,3 / 1:3,6	

* Se refiere a Punta Cuchillo e Isla Cedros

obtuvo expulsión de gametos en 60 ocasiones (39 para *C. rhizophora* y 21 para *C. gigas*).

Fertilización, levante larval y fijación

En total se realizaron 11 levantes larvales, 2 con *C. gigas* provenientes de Chile y Brasil y 9 con *C. rhizophorae* proveniente del Estero Viscaya. El número de óvulos/hembra en los 2 levantes de *C. gigas* fue de 47×10^6 y 20×10^6 respectivamente, mientras que en *C. rhizophorae* osciló entre 1×10^6 hasta 15×10^6 óvulos/hembra. Los porcentajes de fertilización mejoraron de un 39 % inicialmente hasta 83 % en los últimos levantes.

En la alimentación larval, el uso del microencapsulado Frippak se suspendió debido a la alta producción de nitritos en los sistemas recirculados y a la limitadas reservas de agua de mar, por lo que se procedió a alimentar solamente con microalgas. Las larvas alimentadas con dietas del 100 % con *N. oculata*, *T. suecica* y *C. gracilis*, presentaron en promedio un 93 % de mortalidad entre el quinto y séptimo día de edad, mientras que con *I. galbana* un 30 % llegó a mancha ocular a los 19 días de edad. Los mejores resultados se obtuvieron con mezclas de algas que variaron desde un 100 % de *I. galbana* en etapa veliger hasta 40:60 % *I. galbana*: *C. gracilis* en etapas pediveliger (cuadro 1).

La inducción a metamorfosis con neurotransmisores no dió resultado en ninguno de los casos. Con el método de concha molida la mejor fijación (26 %) se obtuvo con tamaños de partícula entre los 250-350 μ m, comparado con un 14 % con partículas entre 350- 425 μ m. Los mejores resultados arrojaron un promedio del 36 % ($\pm 21,93$) de fijación "semilla libre", a partir del total de larvas pediveliger, esto corresponde a 1,84 % ($\pm 0,76$) promedio a partir del total de larvas veliger (24h).

En total, sólo en 4 de los 11 levantes larvales realizados se logró obtener semilla, en todos los casos de reproductores de *C. rhizophorae* provenientes del banco natural de Estero Viscaya.

Producción de alimento

El cuadro 5 muestra las densidades de microalgas obtenidas para volúmenes máximos de 20 L, así como los datos de referencia.

Sistemas de cultivo y engorde

El cuadro 6 muestra los índices de crecimiento, así como los índices de condición obtenidos en los diversos sitios de cultivo. Se incluyen referencias de otros cultivos en zonas tropicales.

El cuadro 7 muestra los rangos de temperatura, salinidad, oxígeno, pH y turbidez (determinada por el método Sechii) que se determinaron en cada zona de cultivo.

Cuadro 5.
Densidades máximas de algas obtenidas durante el período de estudio

Especie	Tamaño (μm)	Cel/mL* F/2-20L	Tiempo (horas)	Densidad reportada	Referencia
<i>Nanochloropsis oculata</i> (Chlorophyceae)	4,5-5 largo 3,5-4 ancho	10-13 x 10^6	92-96	20-25x 10^6	Fulks y Main. 1991
<i>Tetraselmis tetrahele</i> (Chlorophyceae)	15-21,0 largo 10,5-15,5 ancho	3-4 x 10^5	124-148	3-5x 10^5	Fulks y Main. 1991
<i>Tetraselmis suecica</i> (Chlorophyceae)	13-18 largo 13 ancho	3-4 x 10^5	124-148	5x 10^5	Otero y Fábregas 1997
<i>Isochrysis galbana</i> (Haptophyceae)	7 largo 4 ancho	8x 10^6	120-130	8-9x 10^6	Aquacop 1983
<i>Chaetoceros gracilis</i> (Baccilariophyceae)	5-7 x 4 (con setas 30-37)	3-4 x 10^6	70-90	4x 10^6	Fulks y Main. 1991

* Se refiere a los resultados obtenidos en este trabajo.

Estos volúmenes son inoculados con 2,5 L de algas a una concentración de $10^5 - 10^6$ según la especie y la urgencia del levante del alimento, la temperatura para 20 L, de cultivo se encuentra entre los 28 - 30 °C y la intensidad de luz varía entre los 700 Lux para un cultivo recién inoculado a 2000 Lux para un cultivo en la fase exponencial avanzada.

Problemas por incrustantes (cirripedios, esponjas y ascidias) no fueron tan determinantes en la sobrevivencia, como sí lo fue la depredación por caracoles perforadores de los géneros *Cymatium sp* y *Thais sp.*, peces de las familias *Diodontidae*, *Tetraodontidae* y *Balistidae* (pez chayote, pez globo y pez chancho, respectivamente), en los sistemas de bolsas y, más determinante fue el severo ataque que se presentó en todas las zonas de cultivo por un gusano perforador del género *Polydora*, ocasionando mortalidades mayores del 94 %. La depredación por peces pudo resolverse utilizando canastas de alambre metálico forrado en plástico.

DISCUSION

La proporción de sexos macho:hembra en otras está determinada tanto por la fisiología y genética reproductiva de la especie, como por la interacción adaptativa con los factores cambiantes de su medio ambiente. Este tema ha sido ampliamente discutido por THOMPSON *et al.* (1996). Diversos autores han sugerido que condiciones

ambientales pobres, como escasez de alimento o variaciones drásticas en temperatura y salinidad, generan cambios en la proporción de sexos, a saber generalmente un aumento relativo de los machos. Otro factor es la biología reproductiva normal de estos organismos, clasificados como hermafroditas protándricos: los que alcanzan la primera madurez como machos y en períodos posteriores maduran como hembra.

La evidencia indica que los padrotes obtenidos de la zona atlántica están sometidos a condiciones ambientales adversas. ALARCÓN (1993) reporta que la reproducción en las poblaciones naturales de *C. rhizophorae* muestra rasgos de hermafroditismo secuencial protándrico. En Estero Viscaya encontró que la transformación de sexos ocurre entre los 50-60mm, la misma talla que los individuos utilizados en este trabajo. Respecto a los bancos naturales de *C. rhizophorae* menciona que "las presiones ambientales sobre las poblaciones son tan drásticas que las hacen más vulnerables a presiones adicionales, ya sea pesca u otro tipo de

factores negativos causados por el hombre". La alteración que sufrieron los bancos naturales por el terremoto de 1992, la descarga de sedimentos por esorrentía y drenaje de aguas servidas, además de la extracción furtiva en Estero Viscaya, son probablemente los principales factores que no sólo repercuten en el tamaño de la población, sino también en la proporción sexual, tal como lo indican THOMPSON *et al.* (1996).

Por las proporciones de sexo observadas en padrotes de los estanques de cultivo de la finca camaronera ChomesMar S.A. (cuadro 3) podría concluirse que ésta es la mejor zona de aclimatación para reproductores de *C. rhizophorae*, al contrario de Paquera, donde la relación H:M varió entre 1:0 - 1:13 o de Quepos, en donde muy pocos individuos respondieron a la inducción a desove. En el caso de *C. gigas* en Quepos (cuadro 4), se puede observar una alta desproporción de sexos, además de una baja cantidad de organismos maduros. La causa más probable es el comportamiento protándrico mencionado anteriormente, dado que estas poblaciones de padrotes pertenecen a un mismo stock de semillas.

El mecanismo de bloqueo a la poliespermía en ostras parece no estar relacionado con reacciones corticales como suele ocurrir en otros invertebrados. Se especula que sea similar al de quitones, ranas y estrellas de mar, donde este mecanismo se regula por cambios en el potencial eléctrico del óvulo: cuando el primer espermatozoide atraviesa el plasmalema se origina un flujo de iones Na^+ hacia el interior del huevo, cambiando el potencial de negativo a neutro o positivo durante varios segundos (potencial de fertilización). El tiempo necesario para que ocurra este cambio de potencial es de 1 a 2 segundos aproximadamente, tiempo suficiente para que en condiciones de laboratorio con altas concentraciones de espermios, más de un espermio sea capaz de atravesar el plasmalema y fertilizar el óvulo provocando la poliespermía (BALINSKY, 1983 citado por ALARCÓN, 1987). Al respecto STEPHANO y GOULD (1988) reportan daños en el clivaje producto de óvulos que han sido penetrados por más de un espermio, dando como resultado larvas anormales. Por esta razón se ha prestado mucha atención a la proporción

espermio:óvulo (E:O) en estos organismos durante la fertilización *in vitro*. DOS SANTOS y NASCIMENTO (1985) determinaron proporciones de E:O para producción en criaderos de larvas veliger de *C. rhizophorae* de 500 - 5000 :1. STEPHANO y GOULD (1988) reportan para *C. gigas* proporciones de 1000:1 con porcentajes de fertilización del 85 % produciendo larvas veliger normales. Sin embargo, en muchos criaderos no se cuantifica esta relación E:O, sino que la mezcla se hace basados únicamente en la experiencia del personal a cargo.

Otra técnica utilizada es la de aumentar el tiempo de exposición de los gametos en agua de mar sin que ocurra la fertilización. DOS SANTOS y NASCIMENTO (1985) reportan porcentajes de fertilización de 50 %, 35 %, 25 % y 16 % en huevos que fueron fertilizados 45, 60, 90 y 120 minutos respectivamente, después de ser expulsados los espermios al medio. Por otro lado STEPHANO y GOULD (1988) reportan porcentajes de 55 a 100 % y 5 a 69 % de poliespermia en oocitos inseminados de 5 a 15 minutos y de 60 a 90 minutos después de ser removidos mecánicamente de la gónada y con proporciones E:O 30:1 y 50 000:1 respectivamente. Al realizar la misma experiencia con oocitos obtenidos de desoves y proporciones E:O de 35:1 y 10000:1, los porcentajes de poliespermia disminuyeron drásticamente a 7 a 15 % y 1 a 13 %, respectivamente.

Nuestra rutina de fertilización se basa en estos trabajos con algunas modificaciones hechas en el transcurso de las fertilizaciones: con gametos obtenidos por desoves, proporciones E:O de 500:1 y 100:1 para *C. rhizophorae* y *C. gigas* respectivamente, y un tiempo de incubación en agua de mar entre 40 a 90 minutos, se logró mejorar los porcentajes de fertilización de 39 % hasta 83 %, para un promedio de fertilización durante el período de estudio de 58,4 % ($\pm 25,5$). Estos resultados están basados en la obtención de larvas veliger normales 24 horas después de la fertilización.

Un momento crítico en la etapa larval, que conlleva altas mortalidades, es la primera alimentación, cuando la larva agota la reserva del huevo y debe encontrar alimento del medio para no

morir de inanición. Las mortalidades obtenidas con *N. oculata*, se deben probablemente a que el sistema digestivo no puede retener partículas menores de 5 mm. FRETTER y MONTGOMERY (1968) y BABINCHAK y UKELES (1979) (ambos citados por BAYNE 1983), observaron en larvas veliger de *C. virginica* que las células de *Monochrysis lutheri* eran ingeridas, lisadas y digeridas rápidamente, mientras que células de *Chlorella autotrophica* eran ingeridas, pero no lisadas y rápidamente vaciadas del intestino. En el caso de células de gran tamaño, como *T. suecica* y *C. gracilis*, ni siquiera pueden ser ingeridas. Aunque *I. galbana* parece dar mejores resultados que las otras algas, es probable que ella sola no cubra todos los requerimientos nutricionales que demanda la larva durante su desarrollo, especialmente proteínas y ácidos grasos esenciales. WALDOCK y NASCIMENTO (1979, citado por LANGDON y NEWELL 1996) no encontraron correlación entre la proporción de lípidos en la dieta suministrada y el crecimiento larval en *C. gigas*. WHYTE *et al.* (1989) tampoco encontraron correlación entre la proporción de proteína y lípidos de la dieta suministrada y el crecimiento de larvas de *Patinopecten yessoensis*. ENRIGHT *et al.* (1986) encontraron que una mezcla de cinco tipos de especies con igual proporción de células, rindió mejor crecimiento en juveniles de *O. edulis* que dietas que consistían de una sola especie, otros investigadores han reportado también que mezclas de algas son dietas superiores a una dieta unialgal. Esto concuerda con nuestra experiencia en que los mejores resultados se obtuvieron con una mezcla de *I. galbana* y *C. gracilis* (cuadro 1). Una dieta adecuada en todo el período de larva planctónica y sobre todo en la etapa de mancha ocular, ayudará a la larva a sobrevivir la segunda etapa crítica de su desarrollo, la metamorfosis y la fijación, en que se suspende la alimentación y se reorganiza todo su sistema alimentario.

Nuestros intentos de reproducir las técnicas de BONAR *et al.* (1990), que con inductores de metamorfosis como GABA, L-Dopa, norepinefrina y epinefrina reportaron un 85 % y 60 % de larvas pediveliger de *C. gigas* y *C. virginica* respectivamente, que metamorfosearon y no se fijaron, no dieron resultado y no se observó ningún tipo de inducción a metamorfosis. COON *et al.* (1986)

plantean que las larvas son capaces de retornar al comportamiento planctónico, si no encuentran las condiciones adecuadas para que ocurra la metamorfosis, por lo que consideramos que nuestros resultados se hayan debido a una excesiva manipulación en la selección de larvas aptas para la inducción. Sería importante retomar esta prueba con larvas que sean levantadas en los mismos sistemas en donde se llevaría la inducción a metamorfosis.

La concha molida de 250 μm - 350 μm es el tamaño adecuado para la obtención de "semilla libre", porque el espacio que ofrece es únicamente para una larva. Sin embargo, esto no evita que en los sistemas de cultivo se observen sitios con mucha fijación y otros con poca o ninguna fijación. Este comportamiento ya ha sido reportado por KENNEDY (1996) como comportamiento de "fijación gregaria" en la ostra europea. HIDU (1971 citado por KENNEDY 1996) llama "factores gregarios" a los productos metabólicos de otros microorganismos como bacterias, que estimulan así la fijación en zonas específicas. La ventaja de este método es que se pueden remover fácilmente las larvas que se fijan primero, evitando la fijación de larvas tardías sobre las "semillas tempranas", aumentando los rendimientos de fijación y obtención de "semilla libre".

En la etapa de engorde los mejores crecimientos se obtuvieron con la ostra japonesa *C. gigas* en los canales de abastecimiento de la finca camaronera Langostinos del Pacífico S.A. (Quepos), con un crecimiento promedio de 0,36 mm/día y una sobrevivencia de 55 %, libre de *Polydora* durante 1991. Estos resultados son parecidos a los obtenidos en Fiji (0,29 mm/día) y bastante mejores que los reportados en Palau y Mauritius (0,21 mm/día y 0,17mm/día respectivamente) (ANGELL 1986). Modificaciones en la infraestructura de esta empresa, como el aumento en la capacidad de bombeo, aumentando así la suspensión de sedimento y alteraciones ambientales en la zona (ruptura de la Isla Damas aumentando la influencia del agua oceánica en el abastecimiento de agua), favorecieron el establecimiento de la *Polydora sp.* en esta finca, repercutiendo severamente en el crecimiento de las ostras durante el período de 1996 a 1998 (cuadro 6). En las zonas ubicadas en el Golfo de Nicoya (Isla Cedros, Pta. Cuchillo, Isla Venado

Cuadro 6.

Crecimiento de *Crassostrea gigas* y *Crassostrea rhizophorae* en las diferentes áreas de estudio y su comparación con otras zonas del trópico

Lugar	Año	Crecimiento en altura (mm/mes)	Crecimiento diario (mm/día)	Índice de Condición (‰)	Sobrev. (%)
Isla Cedros*	95	35/3,9	30	67,7 - 85,1	-
Chomes*	95	53/8,5	21	-	6
Isla Cedros**	95	53/5,2	34	63,3 - 117,8	-
	97	41/2,3 ¹	7	89,5 - 119,1	-
Pta. Cuchillo**	96	39/4,7	28	61,3 - 99,9	-
Isla Venado**	97	43/2,0 ²	5	62,5 - 91,1	-
	98	33/3,9	28	65,6 - 95,2	-
	99	49/4,3	38	80,0 - 111,0	-
Quepos**	91	78/7,3	36	-	55
	96	43/6,4	22	60,0 - 120,0	-
	97	40/6,0	22	54,0 - 68,6	48
	98	51/5,6	31	58,5 - 61,3	30
Otros ³	Fiji**	80/9,0	29	-	-
	Palau**	57/9,0	21	-	-
	Mauritius**	70/14,0	17	-	-
	Venezuela*	70/9,0	26	-	-
	Puerto Rico*	30/4,0	25	-	-
	Cuba*	50/9,0	19	-	-

* *Crassostrea rhizophorae*. ***Crassostrea gigas*. ¹Talla de siembra de 40 mm. ²Talla de siembra de 36 mm.

³ fuente: ANGELL. 1986.

y ChomesMar S.A.) el crecimiento de las ostras fue parecido a los datos reportados en Fiji y Palau para *C. gigas* y en Cuba, Puerto Rico y Venezuela para *C. rhizophorae* (ANGELL 1986). No obstante, nuestros cultivos sufrieron de mortalidades de más del 94 %, siendo la causa principal la severa infección por *Polydora* (cuadro 6) en todas las zonas de cultivo.

El índice de condición permite evaluar el estado de salud general del organismo. En la escala utilizada por el Departamento de Pesca de Washington se establece que índices de condición mayores de 100 en base a 1000 son productos de excelente calidad (WESTLEY en HUGHES-GÁMEZ 1977). Nuestros valores de índices de condición (cuadro 6), muestran que las ostras producidas en las diferentes zonas de cultivo son de buena calidad.

La temperatura y salinidad son los factores que más influyen en la biología de las ostras, repercutiendo en una forma directa en la capacidad

de filtración, digestión y asimilación del alimento, capacidad de respiración, utilización de las reservas, desarrollo gonadal, cantidad y calidad en los desoves, interacciones con enfermedades y parásitos, depredación, crecimiento, distribución, comportamiento etc., y de un forma indirecta en los factores ambientales como concentraciones de seston, luz, pH, O₂. Tolerancia o susceptibilidad de las ostras a contaminantes como metales pesados está fuertemente influenciada por las condiciones de temperatura y salinidad, especialmente en estados tempranos de desarrollo (SHUMWAY 1996). Los valores de salinidad y temperatura determinados en nuestros muestreos se encuentran en el rango reportado por ANGELL (1986) para ambas especies. También el oxígeno disuelto se encontró dentro del ámbito que se especifica como normal para un buen crecimiento de estos organismos. El pH tuvo poca variación. SHUMWAY (1996) menciona rangos de pH de 6,75-8,75 para un desarrollo embrionario normal en *C. virginica* y de 8,25 - 8,5 para un crecimiento óptimo en larvas

Cuadro 7.
Rangos de los parámetros fisicoquímicos
encontrados en las diferentes áreas de estudio

Lugar	Años	Salinidad (‰)	Temperatura (°C)	Oxígeno (mg/L)	pH	Sechii (cm)	Hora (muestreo)
Isla Cedros	95	31 - 35	26 - 29	4,1 - 8,6	6,2 - 8,7	25 - 400	7.22 - 14.40
	97	32 - 33	28 - 29	5,8 - 6,6	7,9 - 8,2	110 - 240	8.00 - 9.15
Pta. Cuchillo	96	31 - 35	25 - 27	6,2 - 6,8	8,0 - 8,7	160 - 250	6.40 - 13.50
Isla Venado	97	28 - 35	29 - 32	5,8 - 7,0	7,7 - 8,2	50 - 250	7.00 - 16.10
	98	14 - 30	28 - 32	5,6 - 7,0	6,4 - 8,8	50 - 70	10.12 - 12.55
Chomes	95	14 - 29	26 - 31	3,4 - 8,0	7,2 - 8,5	20 - 40	7.30 - 14.30
Quepos	91	9 - 31	29 - 31	5,3 - 6,9	7,4 - 9,0	-----	-----
	96	13 - 32	28 - 32	6,2 - 7,2	7,0 - 8,2	25 - 45	12.15 - 16.00
	97	20 - 30	31 - 35	5,2 - 8,2	7,2 - 9,0	30 - 50	13.00 - 16.40
	98	15 - 36	29 - 33	5,4 - 6,4	7,2 - 8,2	30 - 70	10.00 - 15.30

de ostras, que son las etapas más susceptibles a variaciones en los parámetros físicos-químicos. Se considera por lo tanto, que las variaciones observadas en los parámetros fisicoquímicos no pudieron provocar las altas mortalidades en los cultivos (cuadro 7).

Se considera que la alta mortalidad ha sido el resultado de las severas infecciones por parte del gusano perforador *Polydora spp.*, problema que se presentó en todas las zonas de cultivo. Este organismo habita zonas fangosas, su larva es planctónica y poco después de eclosionar busca un sustrato donde se fija y empieza a perforar galerías. Según WHITE y WILSON (1996) la *Polydora* no ataca el tejido blando. Sin embargo, el daño podría darse indirectamente, ya que las ostras con severas infecciones deben invertir mucha energía en mantenimiento y reparación de la concha a costa del crecimiento o la reproducción, quedando más susceptibles a ser atacadas por patógenos oportunistas. La *Polydora* ha sido reportada como un serio problema en cultivos de *C. gigas* y *C. rhizophorae* en el Sur de Brasil (POLI *et al.*, sin año), en cultivos de *C. virginica* en la Costa Oeste de Norteamérica (KENNEDY *et al.* 1996) y en cultivos de *C. gigas* en Bahía Algoa en Africa del Sur (NEL *et al.* 1996). El método más factible para controlar la infección de *Polydora* es la exposición periódica de las ostras al sol, no sólo por la facilidad en su implementación en cultivos de mediana y gran escala, sino porque es el método que menos repercusión negativa tiene en los ecosistemas (SILVEIRA sin año).

La transferencia de tecnología se realizó en convenio con el programa DRIP (Desarrollo Rural Integral Peninsular) y se dirigió a grupos organizados de la comunidades de Paquera (ABUZPA), Jicaral e Isla Venado (ASPEGO), todas ellas ubicadas en el Golfo de Nicoya, Puntarenas. La lejanía en que se encontraban las instalaciones de la Universidad afectó mucho el contacto directo y constante con los interesados. Es difícil vencer la apatía e involucrar a los pescadores en la actividad de cultivo, ya que para ellos es mucho más sencillo salir a pescar y vender el producto obtenido inmediatamente, que estar dando mantenimiento y cuidado a cultivos durante seis hasta nueve meses, sin certeza de que la actividad sea realmente rentable y sin contar con otros recursos que cubran en este tiempo el propio mantenimiento y el de su familia. Por tanto, para poder desarrollar en un futuro cercano el cultivo de ostras en el Golfo de Nicoya, será necesario, además de resolver los problemas tecnológicos que aún persisten, integrar entidades de ayuda social que posibiliten a los pescadores dedicar parte de su tiempo a la acuicultura.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha contado con el apoyo de JICA (Programa de Cooperación de Voluntarios Japoneses), de empresas camaroneras (ChomesMar S.A. y Langostinos de Pacífico S.A.), del CYTED (Programa de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, 1992), de UNA-LUW (Programa de Cooperación

Costa Rica - Holanda, 1995) y del DRIP (Programa de Desarrollo Rural Integral Peninsular, 1997). Este último cubrió los gastos financieros requeridos para trabajar en conjunto con las tres comunidades del Golfo de Nicoya; Isla Venado, Paquera y Jicaral.

REFERENCIAS

- Alarcón, F.A. 1987. Ensayos sobre reproducción artificial de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), (Pelecypoda : Ostreidae). Trabajo de graduación de Bachillerato en Biología Marina, Universidad Nacional, Costa Rica. Mimeografiado 87 p.
- Alarcón, F.A y E. Zamora. 1993. Ciclo de maduración sexual y hermafroditismo en las poblaciones de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) en Estero Negro y Estero Viscaya, Limón; Costa Rica. En: Actas del Simposio Investigación Acuicola (Acuicultura y Pesca) en Centroamérica (eds. Günther y Kleijn), p. 19-35.
- Angell, C. 1986. The biology and culture of tropical oysters. International Center for Living Aquatic Resources Management. ICLARM, Philippines 42p.
- Aquacop 1983. Algal food cultures at the Centre Oceanographique du Pacifique. En: McVey y Moore (eds.). CRC Handbook of Mariculture. CRC, Boca Raton, Florida, USA, pp.3 - 13.
- Bayne, B.L., 1983. Physiological ecology of marine molluscan larvae. The Mollusca, Volume 3. Academic Press, New York. p. 299-343.
- Bonar, D.B., S.L. Coon, M. Walch, R.M. Weiner y W. Fitt. 1990. Control of oyster settlement and metamorphosis by endogenous and chemical cues. Bull. Mar. Science 46: 484-498.
- Coon, S.L., D.B. Bonar y R.M. Weiner. 1986. Chemical production of cultchless oyster spat using epinephrine and norepinephrine. Aquaculture 58: 255-262.
- Dos Santos, A. y L. Nascimento. 1985. Influence of gamete density, salinity and temperature on the normal embryonic development of the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828). Aquaculture 47: 335-352.
- Enright, C.T., G.F. Newkirk, J.S. Craigie and J.D. Castell. 1986. Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis* L. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 96:1-13.
- Fulks, W. y K.L. Main. 1991. Rotifer and microalgae culture systems. Proceedings of a U.S. - Asia Workshop. Honolulu, Hawaii, 364p.
- Hughes-Games, W. 1977. Growing the japanese oyster (*Crassostrea gigas*) in subtropical seawater fish ponds. I. Growth rate, survival and quality index. Aquaculture 11: 217-229.
- Kennedy, V. 1996. Biology of larvae and spat. En: Kennedy V. y R.I.E. Newell (eds.). The Eastern Oyster *Crassostrea virginica*. Sea Grand, USA. p. 371-403.
- Langdon, C.J. y R.I.E. Newell. 1996. Digestion and nutrition in larvae and adult. En: Kennedy V. y R.I.E. Newell (eds.). The Eastern Oyster *Crassostrea virginica*, Sea Grand, USA.p. 231-260.
- Lawrence, D.R. y G. I. Scott. 1982. The determination and use of condition index of oysters. Estuaries 5: 23-27.
- Nel, R., P.S. Coetzee y G.V. Niekerk. 1996. The evaluation of two treatments to reduce mud worm (*Polydora hoplura Claparede*) infestation in commercially reared oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg). Aquaculture 141 :31-39
- Otero, A. y J. Fábregas. 1997. Changes in the nutrient composition of *Tretaselmis suecica* cultured semicontinuously with different nutrient concentrations and renewal rate. Aquaculture 159: 111-123.
- Shumway, E.S. 1996. Natural Environmental Factors. En: Kennedy V. y R.I.E. Newell (Eds). The Eastern Oyster *Crassostrea virginica*. Sea Grand, USA, p. 467-503.
- Silveira, N. (sin año). Predadores, incrustantes e enfermidades. En: Universidad Federal de Sta. Catarina, Centro de Ciencias Agrarias (Eds). Curso Sobre Cultivo de Ostras. Univ. Fed. Sta. Catarina. Brasil. p.39-55.
- Stephano, J.L. y M. Gould. 1988. Avoiding polyspermy in the oyster (*Crassostrea gigas*). Aquaculture 73: 295-307.
- Thompson, R.J., R.I.E. Newell, V.S. Kennedy y R. Mann. 1996. Reproductive Processes and early development. En: Kennedy V. y R. I. E Newell (Eds). The Eastern Oyster *Crassostrea virginica*. Sea Grand, USA. p. 335-364.
- White, M.E. y E.A. Wilson. 1996. Predators, Pests and Competitors. En: Kennedy V. y R.I.E. Newell (Eds). The Eastern Oyster, *Crassostrea virginica*. Sea Grand, USA. p. 559-575.
- Whyte, J.N.C., N. Bourne y C.A. Hodgson. 1989. Influence of algal diets on biochemical composition and energy reserves in *Patinopecten yessoensis* (Jay) larvae. Aquaculture 78:333-347.